ارتباط رطوبت و سرب موجود در خاک بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز خاک

اکبر فرقانی[۱*]، امیرحسین فرقانی[۲]، معصومه تقی‌زاده[۳] و بابک ربیعی[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۳۱)

چکیده

آلودگی خاک‌ها با فلزات سنگین به‌دلیل حضور فلزات متنوعی مانند مس، نیکل، کادمیوم، روی، کروم و سرب است. فلزات سنگین اثرات مضری بر توابع بیولوژیکی خاک شامل اندازه، فعالیت و تنوع جمعیت میکروبی خاک و فعالیت آنزیم‌های درگیر در تغییر شکل عناصری مانند P، N، C و S دارند. از این‌رو فعالیت آنزیم‌های خاک به‌عنوان یک معرف زیستی روشی ارزان و سریع برای توزیع طبیعی و آنتروپوژنیک آلودگی فلزات سنگین مورد توجه واقع شده است. هدف این تحقیق بررسی اثرات سرب و رطوبت خاک بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز و برهم‌کنش آنها در طی ده هفته انکوباسیون است. برای اعمال تیمارهای سرب از نمک استات سرب به مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک استفاده شد و سپس به گلدان‌های حاوی خاک با دو رژیم متفاوت آبی (ظرفیت مزرعه و غرقابی) اضافه شد. سپس در هفته‌های ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز اسیدی و قلیایی از هر گلدان نمونه‌برداری شد. با توجه به نتایج مشخص شد که فعالیت آنزیم اوره‌آز و فسفاتاز اسیدی در خاک مورد مطالعه تحت تأثیر غلظت‌های متفاوت سرب واقع نشد درحالی که فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در غلظت زیاد سرب کاهش یافت. از طرفی رطوبت در نحوه عملکرد آنزیم‌ها متفاوت و وابسته به غلظت سرب و زمان انکوباسیون عملکرد متفاوتی داشت. همچنین عملکرد و برهم‌کنش سه عامل سرب، رطوبت و زمان در فعالیت آنزیم‌های فوق به‌شدت تأثیرگذار است؛ بنابراین در مطالعه خاک‌های آلوده توجه به غلظت سرب، میزان رطوبت و زمان و برهم‌کنش آنها برای بررسی آلودگی خاک حائز اهمیت است.

واژه‌های کلیدی: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، ظرفیت مزرعه، غرقاب، فسفاتاز اسیدی، فسفاتاز قلیایی

۱- گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رشت، رشت
۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران
۳- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رشت، رشت
*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: forghani@guilan.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

فلزات سنگین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع خاک‌های آلوده مورد توجه محققین قرار گرفته است. آلودگی خاک‌ها با فلزات سنگین به‌دلیل حضور فلزات متنوعی مانند مس، نیکل، کادمیوم، روی، کروم و سرب است. سرب به‌طور طبیعی در محیط زیست وجود دارد اما در اکثر موارد سرب موجود در طبیعت حاصل فعالیت‌های انسانی است و یکی از متداول‌ترین فلزات سنگین در خاک‌های آلوده است. درواقع چرخه سرب در اثر فعالیت‌های انسانی گسترده شده و همین امر باعث آلودگی سرب در سرتاسر دنیا شده است (۲۷). بالاترین غلظت سرب معمولاً در افق سطحی مشاهده می‌شود. در خاک‌های غیرآلوده با بافت سبک، مقدار میانگین سرب ۱۵ تا ۱۷ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و ۱۷ تا ۲۲ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک با بافت سنگین است (۵، ۸ و۲۷). آلودگی فلزات سنگین یک تهدید جدی برای کیفیت خاک محسوب می‌شود زیرا فلزات سنگین بعد از ورود به خاک ماندگار هستند. مشخص شده فلزات سنگین اثرات مضری بر توابع بیولوژیکی خاک شامل اندازه، فعالیت و تنوع جمعیت میکروبی خاک (۵) و فعالیت آنزیم‌های درگیر در تغییر شکل عناصری مانند P، N، C و S دارند. حذف فلزهای سنگین از محیط زیست به سبب پیامدهای مخرب و درازمدت آن مورد توجه قرار گرفته است. از این‌رو استفاده از یک فناوری کارآمد و دوست‌دار محیط زیست برای کنترل آلودگی فلزهای سنگین امری ضروری و اجتناب‌ناپذیر است (۲۳). اثرات بازدارندگی فلزات سنگین بر فعالیت آنزیم‌های خاک توسط پژوهشگران زیادی گزارش شده است. فعالیت آنزیم‌های خاک به‌عنوان یک معرف زیستی روشی ارزان و سریع برای توزیع طبیعی و آنتروپوژنیک آلودگی فلزات سنگین مورد توجه واقع شده است. نخستین گزارش حضور آنزیم در خاک مربوط به سال ۱۸۹۹ میلادی، یعنی قبل از آغاز قرن بیستم میلادی است. میکروارگانیسم‌ها و گیاهان منبع اصلی ترشح آنزیم‌ها به محیط خاک هستند. آنزیم‌های خاک شامل طیف وسیعی از اکسیدو رداکتازها، ترانسفرازها، هیدرولازها و لیازها هستند (۸).

اوره‌آز (اوره آمیداز و هیدرولاز) آنزیمی است که هیدرولیز اوره به دی‌اکسید کربن و آمونیاک را کاتالیز می‌کند. این آنزیم در خاک‌های تیمار شده با کود اوره مسئول تبدیل نیتروژن موجود در اوره به نیتروژن آمونیاکی است و به‌همین دلیل بیش از سایر آنزیم‌های خاک مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۰). همچنین بزرگ‌ترین بخش فسفر آلی در خاک فیتات است که در اثر تجزیه مواد آلی به‌وجود می‌آید. فسفر آلی قبل از اینکه بتواند مورد استفاده گیاه قرار گیرد باید به فسفر معدنی تبدیل شود. آنزیم فسفاتاز به دو آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی بر اساس محدوده pH طبقه‌بندی می‌شود (۱۲). فلزات سنگین با ایجاد کمپلکس از طریق اتصال به گروه‌های فعال پروتئینی آنزیم، از فعالیت آنزیم جلوگیری می‌کنند. طبیعت و درجه بازدارندگی فعالیت آنزیم‌های خاک توسط فلزات سنگین با نوع خاک ارتباط خیلی زیادی دارد (۱۰ و ۱۲). از طرفی رطوبت یکی از عوامل تأثیرگذار بر فعالیت‌های آنزیمی است. در زمین‌های مرطوب درجه خیس بودن، فاکتور مؤثری بر فعالیت‌های آنزیمی است. شرایط ماندابی ممکن است باعث بازدارندگی فعالیت‌های آنزیمی از طریق تغییرات در اجتماع میکروبی، کاهش سنتز آنزیم و افزایش غلظت بازدارنده‌هایی مانند Fe^{2+} تحت شرایط احیا شود (۷، ۱۱ و ۱۵).

پژوهشگران گزارش کرده‌اند که در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و اوره‌آز کمتر از آریل سولفاتاز تحت تأثیر قرار می‌گیرند. سرب می‌تواند با گروه‌های سولفیدریل آنزیم‌ها واکنش دهد و موجب غیرفعال شدن یا بازدارندگی فعالیت آنزیم‌ها شود (۶ و ۱۰). مارزادوری و همکاران (۹) گزارش کردند، فعالیت آنزیم فسفاتاز تحت تأثیر فلز سرب قرار گرفته و سرب باعث کاهش فعالیت آن می‌شود. فعالیت آنزیم اوره‌آز نیز تحت تأثیر عناصر سنگین قرار می‌گیرد (۳). راستین و همکاران (۱۵)، کرامر و گرین (۷) و ویک و همکاران (۲۴) نشان داده‌اند، تغییرات فصلی در رطوبت خاک فعالیت آنزیم فسفاتاز را محدود می‌کند. هریسون (۴) و اسپیر و

www.SID.ir

Archive of SID

همکاران (۱۸) گزارش کرده‌اند که فعالیت فسفاتاز همبستگی معنی‌داری با تغییرات رطوبتی خاک تحت شرایط مزرعه دارد. از آنجایی که بیشتر مطالعات صورت گرفته درخصوص اثر سرب و رطوبت خاک بر فعالیت‌های آنزیم‌های خاک به‌صورت مجزا صورت گرفته است و مطالعه اثرات متقابل رطوبت و سرب بر فعالیت آنزیم‌ها کمتر مورد توجه واقع شده است، هدف این تحقیق بررسی اثرات سرب و رطوبت خاک بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز و برهم‌کنش آنها در طی ۱۰ هفته انکوباسیون است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و آماده‌سازی خاک

با توجه به اینکه خاک مورد آزمایش حتی‌المقدور باید دارای بافت متوسط و مقدار سرب در حد پایین باشد، لذا به‌منظور پیدا کردن چنین خاکی از چندین مکان نمونه‌برداری شد. بعد از بررسی‌های انجام شده، خاک مورد نظر از شالیزاری در روستای جیرده شهرستان شفت در غرب استان گیلان (عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۸ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۶ دقیقه شرق نصف‌النهار مبدأ)، شناسایی و نمونه‌برداری نهایی از عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری آن انجام گرفت. بعد از هواخشک شدن، خاک کوبیده و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. سپس پارامترهایی نظیر اندازه‌گیری بافت خاک به‌روش هیدرومتر بایکاس (۶)، pH به‌روش پتانسیومتری (۱۳)، درصد کربن آلی به‌روش والکی بلک (۲۲)، درصد کربنات کلسیم معادل به‌روش خنثی‌سازی با اسیدکلریدریک (۱۷)، سرب و آهن کل با روش هضم در اسید نیتریک چهار مولار (۱) و سرب قابل جذب با روش DTPA (۱۶) و ظرفیت تبادل کاتیونی با روش جایگزینی استات آمونیوم (۲۰) تعیین شدند. برای اعمال تیمارهای سرب و سطوح رطوبتی خاک، برای اندازه‌گیری آنزیم‌های خاک، ابتدا ۳۰ گلدان به ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر و قطر ۲۰ سانتی‌متر انتخاب و یک کیلوگرم از خاک الک شده درون هر یک از آنها ریخته شد. از آنجایی که آزمایش در دو رژیم رطوبتی ظرفیت مزرعه و غرقاب انجام شد، خاک هر گلدان، ابتدا در پلاستیک ریخته شد. برای اعمال تیمارهای سرب، نمک استات سرب به مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم توزین و در ۳۰ میلی لیتر آب مقطر حل و به خاک گلدان‌ها اضافه شد. سپس خاک، بعد از اعمال تیمار سرب به‌خوبی هم‌زده شد تا سرب به‌طور یکنواخت در تمام خاک پخش شود. سپس گلدان‌ها در رطوبت مورد نظر تنظیم شدند به‌طوری که برای اعمال تیمار غرقاب، ۱۵ گلدان از آب پر شد و ارتفاع آب روی سطح خاک گلدان‌ها به ۴ تا ۵ سانتی‌متر رسانده شد. رطوبت ۱۵ گلدان دیگر نیز در حد ظرفیت مزرعه تنظیم شد. رطوبت گلدان‌ها هر روز کنترل و در هفته‌های ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ از هر گلدان نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز اسیدی و قلیایی انجام شد. گلدان‌های فاقد نمک‌های سرب به‌عنوان شاهد برای هر یک از رژیم‌های آبی درنظر گرفته شد.

اندازه‌گیری مقدار فلزات خاک با روش هضم در اسید نیتریک چهار مولار

به‌منظور تعیین غلظت کل عنصر سرب و آهن، نمونه‌های خاک با اسید نیتریک چهار مولار هضم شدند. به این‌صورت که از هر نمونه ۲ گرم خاک هواخشک وزن و۲۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک چهار مولار به نمونه‌ها اضافه شد. ظرف‌های حاوی نمونه خاک و اسید به‌مدت ۲۴ ساعت در آون تحت دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. به‌منظور جلوگیری از تبخیر اسید درب ظرف‌ها مسدود شد. پس از مدت زمان فوق حجم مخلوط حاصل با اسید نیتریک چهار مولار به ۳۵ میلی‌لیتر رسانده شد و نمونه‌ها به‌مدت نیم ساعت شیک شدند و سپس به‌مدت ۲ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. مراحل فوق برای هر نمونه ۳ مرتبه دیگر تکرار شد و درنهایت ۱۴۰ میلی‌لیتر عصاره حاصل از چهار مرحله عصاره‌گیری جمع‌آوری و مقدار کل عنصر سرب و آهن در عصاره‌های نهایی با استفاده از دستگاه اسپکترومتری جذب اتمی تعیین شد (۱).

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره‌آز

برای تعیین فعالیت آنزیم اوره‌آز، ابتدا ۵ گرم خاک با یک میلی لیتر اوره ۰/۲ مولار تیمار شد و پس از افزودن ۹ میلی‌لیتر بافر تریس (تریس هیدروکسی متیل آمینومتان ۹ =pH)، به‌مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد. آنگاه ۳۵ میلی‌لیتر محلول $KCl\text{-}Ag_2SO_4$ (۲/۵ مولار نسبت به KCl و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به Ag_2SO_4) به آن اضافه و بعد از خنک شدن، با اضافه کردن محلول $KCl\text{-}Ag_2SO$ حجم به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. یک ساعت شیک و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد. مقدار آمونیوم آزاد شده در سوسپانسیون موجود، به‌روش رنگ‌سنجی با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۶۰ نانومتر تعیین و پس از کم کردن مقدار آمونیوم در تیمار شاهد، برحسب میلی‌گرم آمونیوم آزاد شده به‌ازای هر گرم خاک در دو ساعت انکوباسیون ($mg\ N\text{-}NH_4^+\ gr^{-1}\ soil\ 2hr^{-1}$) گزارش شد (۱۹).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتاز (اسیدی و قلیایی) با بستره دی سدیم پارانیتروفنیل فسفات

۱۲/۱ گرم بهارخواب (هیدروکسی متیل آمین متان)، ۶/۱۱ گرم مالئیک اسید، ۱۴ گرم اسید سیتریک مونوهیدرات و ۶/۳ گرم بوریک اسید در ۵۰۰ میلی‌لیتر سود یک مولار حل شد و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد. این محلول در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۷). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتاز ابتدا به میزان یک گرم خاک مرطوب توزین شد و یک میلی‌لیتر از محلول بستره مورد نظر (مخصوص فسفو مونواستراز اسیدی یا قلیایی) و ۴ میلی‌لیتر از محلول بافر مربوطه (برای فسفاتاز اسیدی pH=۶/۵ و برای فسفاتاز قلیایی pH=۱۱) به آن اضافه شد و به ارلن شاهد فقط ۴ میلی‌لیتر محلول بافر (اسیدی یا قلیایی) اضافه شد و به‌مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباسیون قرار گرفتند. بعد از انکوباسیون، ۴ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۵ مولار و یک میلی‌لیتر کلرید کلسیم ۰/۵ مولار برای اتمام فعالیت آنزیمی به آن افزوده شد. به ارلن‌های شاهد یک میلی‌لیتر محلول بستره مورد نیاز (اسیدی یا قلیایی) اضافه و به تمام ارلن‌ها ۹۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده و کاملاً تکان داده شد سپس نمونه‌ها به‌وسیله کاغذ صافی واتمن ۴۲ دولایه صاف شدند. مقدار جذب (شدت رنگ زرد) در نمونه‌ها و شاهد و استانداردها به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر و به‌صورت میکروگرم پارا نیتروفنل بر گرم خاک خشک در یک ساعت انکوباسیون ($\mu g\ PNP.\ gr^{-1}\ Soil\ hr^{-1}$) محاسبه شد (۲۰).

تجزیه آماری داده‌ها

برای تجزیه واریانس داده‌ها، از طرح آماری، فاکتوریل- اسپلیت پلات در زمان در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی استفاده شد. غلظت‌های سرب و وضعیت رطوبتی خاک به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شدند و سپس زمان‌های اندازه‌گیری به‌عنوان فاکتور فرعی آزمایش درنظر گرفته شد و با دو فاکتور غلظت سرب و رطوبت خاک (به‌عنوان فاکتوریل در کرت‌های اصلی)، تجزیه‌وتحلیل داده‌ها به‌صورت فاکتوریل اسپلیت پلات در زمان انجام شد. کلیه تجزیه‌ها و محاسبات با نرم‌افزار **SAS** انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد با نرم‌افزار **SAS** انجام شد. برای بررسی میزان تأثیر مقادیر سرب و رطوبت روی فعالیت آنزیم‌های خاک و تعیین نوع رابطه بین آنها، از روش رگرسیون نیز استفاده شد. برای این منظور از نرم‌افزار **SPSS** استفاده شد.

نتایج

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

پارامترهای فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به جدول، pH خاک تقریباً قلیایی بوده و بافت خاک با توجه به درصد ذرات خاک، لومی رسی شنی است. مقدار آهن کل خاک زیاد و مقدار سرب کل خاک در حد

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

pH	رس	شن	سیلت	سرب کل	سرب قابل جذب	آهن کل	کربن آلی	کربنات کلسیم معادل	FC	CEC
	(درصد)			($mg\ kg^{-1}$)			(درصد)			($meq\ 100gr^{-1}$)
۷/۹۵	۲۸	۶۶	۶	۴/۸	۲/۱۱	۳۶/۳۹	۱/۷	۱/۱۷	۳۳/۸۲	۱۸/۶

جدول ۲. خلاصه تجزیه واریانس اثر سرب و رطوبت بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز اسیدی و قلیایی خاک در طی زمان

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		آنزیم اوره‌آز	آنزیم فسفاتاز اسیدی	آنزیم فسفاتاز قلیایی
سرب	۴	۰/۰۳۹^{ns}	۰/۸۹^{ns}	۵۹/۰۵**
رطوبت	۱	۳۲/۴۹**	۷۵/۶۲**	۷۶۷/۹۷**
سرب × رطوبت	۴	۰/۰۸۵^{ns}	۱۰/۱۹**	۶۲/۵۳**
خطای اول	۲۰	۰/۰۹۶	۲/۷۵	۱۸/۳۲
زمان	۴	۷/۳۵**	۷۳/۰۹**	۸۴۸/۷۱**
زمان × رطوبت	۴	۱/۸۳**	۴۴/۴۰**	۱۸۷/۶۶**
سرب × زمان	۱۶	۰/۰۹۲*	۴/۳۱*	۳۰/۵۶**
سرب × رطوبت× زمان	۱۶	۰/۱۸۳**	۲/۴۳۲^{ns}	۲۳/۲۹**
خطای آزمایش	۸۰	۰/۰۵۱	۲/۰۵	۶/۹۸
ضریب تغییرات (درصد)		۶/۴۴	۱۸/۹۴	۱۰/۳۶

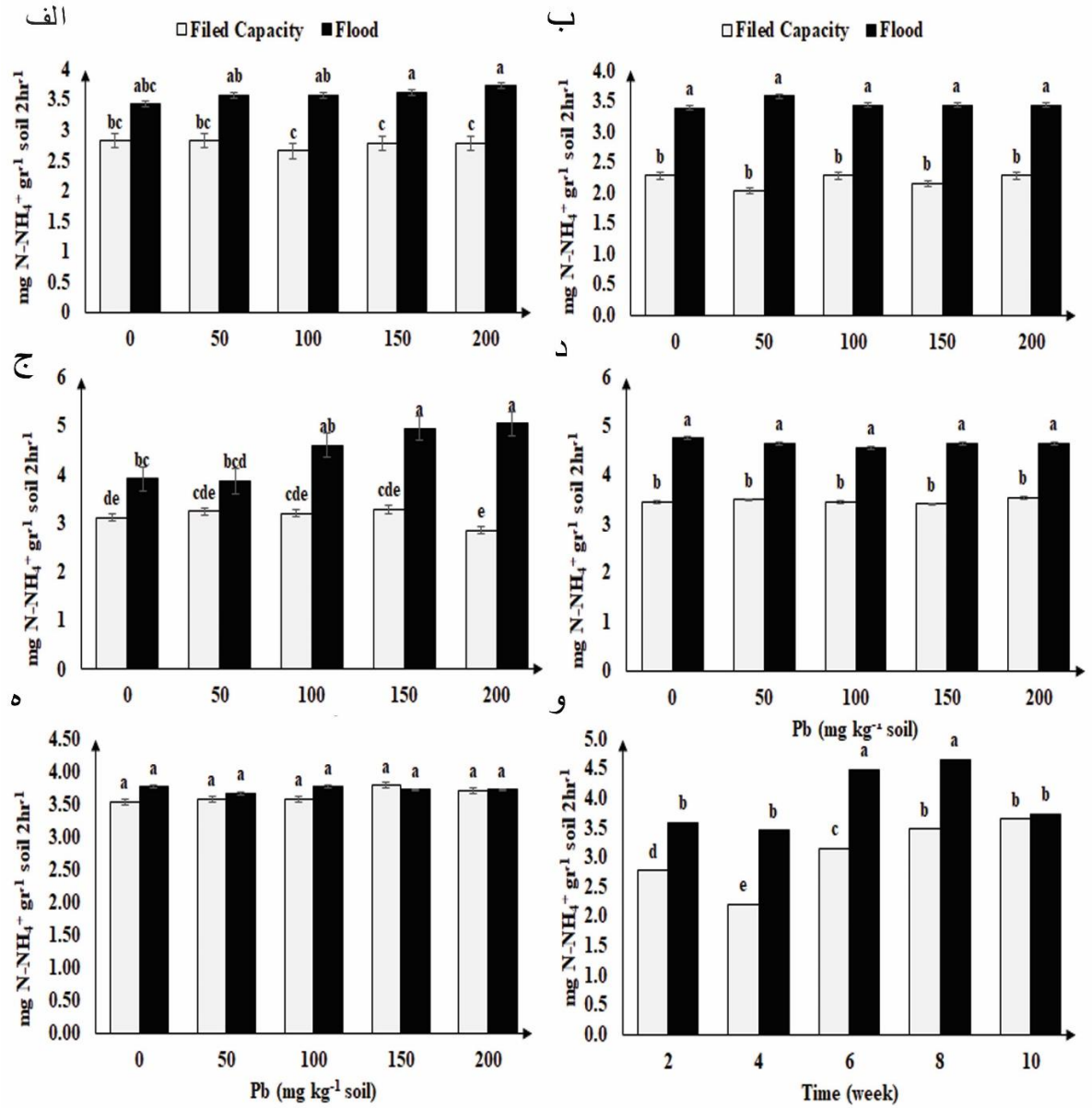
پایینی بود. ظرفیت تبادل کاتیونی خاک نیز در حد متوسط قرار داشت.

اثر سرب، رطوبت خاک و زمان بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز

تجزیه واریانس اثر سرب و رطوبت بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز اسیدی و قلیایی خاک در طی زمان در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس داده‌های جدول ۲ و همچنین شکل ۱ مشخص شد که فعالیت آنزیم اوره‌آز تحت تأثیر غلظت‌های سرب در طی ده هفته انکوباسیون قرار نگرفت. اما این فعالیت در تمامی سطوح سرب در رطوبت غرقاب به‌طور معنی‌داری بیشتر از رطوبت ظرفیت مزرعه بود که بیانگر اثر رطوبت بر فعالیت این آنزیم است. به‌گونه‌ای که بیشترین فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک‌های غرقابی مشاهده شد. نتایج نشان داد که در شرایط رطوبت ظرفیت مزرعه، فعالیت آنزیم اوره‌آز از هفته چهارم روند افزایشی داشت. به‌گونه‌ای که فعالیت آنزیم اوره‌آز در هفته دهم انکوباسیون در شرایط ظرفیت مزرعه اختلاف معنی‌داری با شرایط غرقابی ایجاد نکرد. در مقابل بیشترین فعالیت آنزیم اوره‌آز در شرایط غرقابی در هفته ششم و هشتم ثبت شد که در حدود ۳۴ درصد بیشتر از فعالیت آنزیم در شرایط ظرفیت مزرعه بود. اثر متقابل سرب × رطوبت و تأثیر زمان و اثر متقابل زمان × رطوبت و همچنین اثر متقابل زمان × سرب نیز بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز (با سطوح معنی‌داری متفاوت) معنی‌دار بود. به‌علاوه اثر متقابل زمان × رطوبت × سرب در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز تأثیرگذار بود. در رطوبت ظرفیت مزرعه و شرایط غرقاب همبستگی مثبت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. تغییرات فعالیت آنزیم اوره‌آز در طی: الف) دو، ب) چهار، ج) شش، د) هشت، ه) ده هفته انکوباسیون خاک در دو رژیم متفاوت آبی و و)تغییرات آن در طی زمان است. (مقادیر، میانگین سه تکرار ± SD است.حروف مشابه در هر نمودار بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها با آزمون توکی در سطح ۵ درصد است).

فعالیت آنزیم اوره‌آز و زمان به‌ترتیب (r = ۰/۸۸۳**) و (r = ۰/۵۵۳**) به دست آمد و این نتیجه بیان کننده این است که تغییرات فعالیت آنزیم اوره‌آز در رطوبت ظرفیت مزرعه و غرقاب وابسته و همسو با زمان بود که این وابستگی در رطوبت ظرفیت مزرعه به‌دلیل بزرگ بودن ضریب همبستگی بین فعالیت آنزیم اوره‌آز و زمان بیشتر بود.

اثر سرب، رطوبت خاک و زمان بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز

با توجه به داده‌های جدول ۲ مشخص شد که فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی تحت تأثیر غلظت سرب واقع نشد اما غلظت‌های متفاوت سرب تأثیر ویژه‌ای از نقطه‌نظر آماری بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی ایجاد کردند. نتایج آشکار کرد که تأثیر سرب بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی وابسته به رطوبت

www.SID.ir

Archive of SID

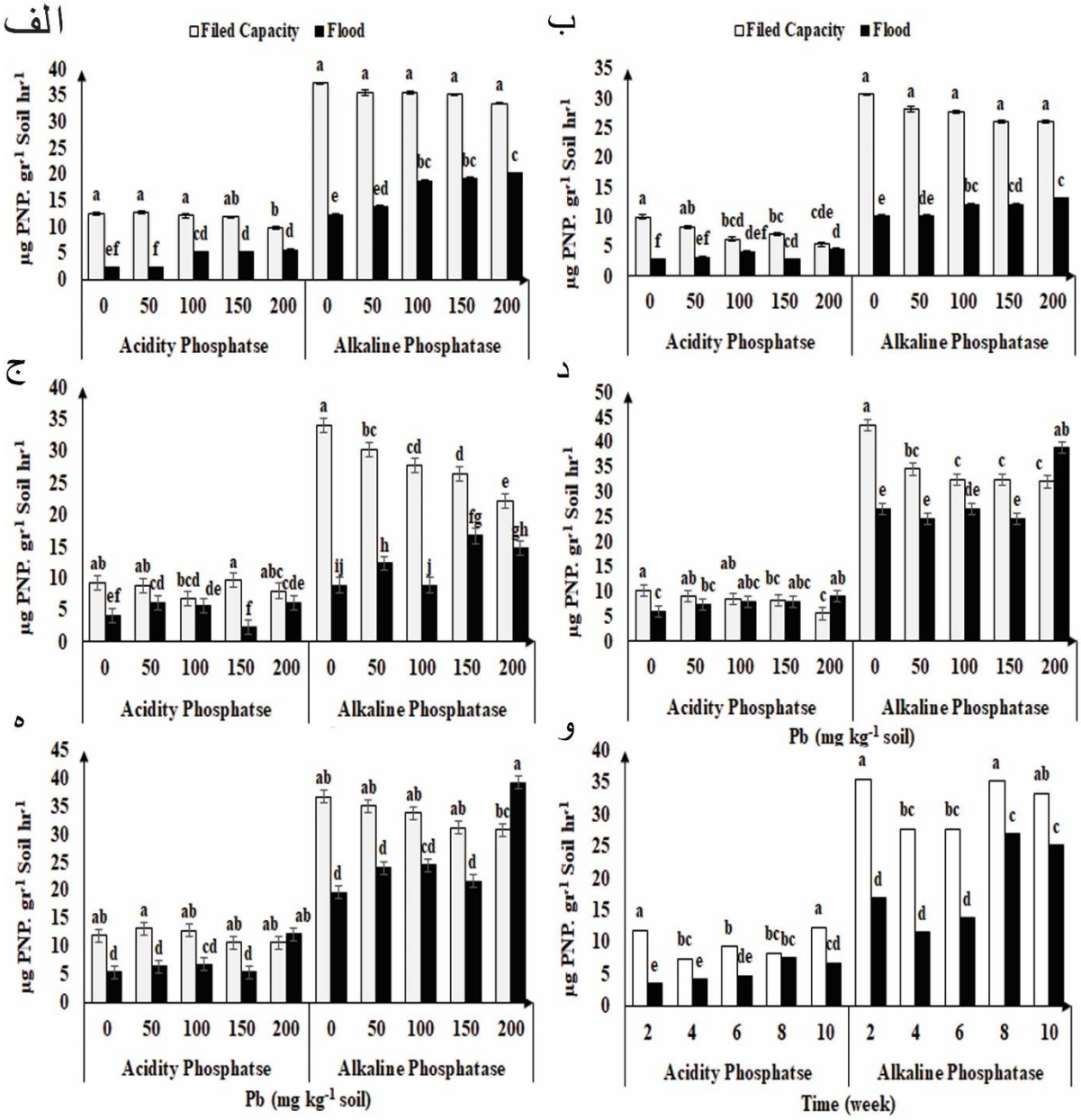
خاک است. به‌طور کلی مشخص شد که در ظرفیت مزرعه با افزایش غلظت سرب فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بیشتر کاهشی است (شکل ۲). اما غلظت بالای سرب در شرایط غرقابی و برهم‌کنش آن با عامل رطوبت سبب افزایش فعالیت فسفاتاز قلیایی شد. به‌عنوان مثال شش و ده هفته پس از انکوباسیون خاک‌هایی که ۲۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک در رطوبت ظرفیت مزرعه دریافت کردند، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به‌ترتیب ۳۵ و ۲۶ درصد در مقایسه با خاک‌های کنترل با رطوبت مشابه کاهش یافت. این درحالی است که خاک‌های حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک در شرایط غرقابی در طی زمان مذکور به‌ترتیب ۶۶ و ۴۶ درصد فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را در مقایسه با خاک‌های کنترل با رطوبت مشابه افزایش دادند. همچنین روند افزایشی اثر متقابل سرب و رطوبت بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی نیز در شرایط غرقاب مشاهده شد. از این‌رو در شرایط غرقاب و با افزودن ۲۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک پس از ۲، ۴، ۸ و ۱۰ هفته فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در مقایسه با خاک‌های فاقد سرب و رطوبت مشابه به‌ترتیب ۱۵۲، ۵۹، ۴۹ و ۱۲۷ درصد افزایش یافت. با وجود این رطوبت کامل خاک به‌صورت چشمگیری فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز (اسیدی و قلیایی) را در مقایسه با رطوبت ظرفیت مزرعه کاهش داد. همان‌طور که نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد فعالیت آنزیم فسفاتاز به‌شدت تحت تأثیر زمان و اثر متقابل زمان × رطوبت است به‌گونه‌ای که در سطح احتمال یک درصد اثر آنها معنی‌دار بود. درخصوص زمان، بر اساس شکل ۲ مشخص شد فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی در شرایط رطوبت مزرعه متناوب بود. آنزیم‌های مذکور در هفته‌های آغازین در شرایط رطوبت مزرعه روند کاهشی در فعالیت خود را آشکار ساختند، درحالی که پس از هفته ششم روند فعالیت آنها افزایشی شد. در مقابل با گذشت زمان روند فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدی در شرایط غرقابی روند افزایشی داشت. به‌عنوان مثال پس از ده هفته انکوباسیون خاک‌های حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در مقایسه هفته چهارم و ششم به‌ترتیب تقریباً ۳ و ۲/۷ برابر شده است و به‌صورت کلی فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدی در شرایط غرقابی در هفته دهم به‌ترتیب ۵۰ و ۱۰۰ درصد در مقایسه با هفته دوم انکوباسیون افزایش یافت. همچنین اثر متقابل زمان × رطوبت × سرب در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و در سطح احتمال پنج درصد بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی معنی‌دار بود.

بحث

فلزات سنگین اثرات مضری بر توابع بیولوژیکی خاک شامل اندازه، فعالیت و تنوع جمعیت میکروبی خاک و آنزیم‌های خاک دارند. اثرات بازدارندگی فلزات سنگین بر فعالیت آنزیم‌های خاک توسط پژوهشگران زیادی گزارش شده است. فعالیت آنزیم اوره‌آز نیز تحت تأثیر عناصر سنگین قرار می‌گیرد. فعالیت آنزیم‌ها به‌طور معنی‌داری با افزایش درجه آلودگی کاهش می‌یابد (۵، ۲۷ و ۲۸). تحقیقات نشان می‌دهد که کمترین مقدار فعالیت آنزیم اوره‌آز در بیشترین مقدار سرب (۸۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و در انتهای دوره خواباندن (۴۵ روز) بوده است و درصد بازدارندگی فعالیت اوره‌آز با افزایش غلظت سرب و زمان خواباندن افزایش می‌یابد (۲۱). برخی از مطالعات بیانگر این است که سرب نسبت به سایر فلزات سنگین، مانند کادمیوم و روی بازدارندگی بارزی بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز ندارد (۳ و ۱۲) و فقط غلظت‌های بسیار زیاد سرب در خاک موجب بازدارندگی فعالیت آنزیم اوره‌آز می‌شود (۳، ۱۲ و ۲۳). این پژوهش آشکار ساخت که سطوح مختلف سرب اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم اوره‌آز نداشته و آنزیم اوره‌آز در حضور سرب با غلظت‌های اعمال شده به فعالیت خود ادامه داد. به‌علاوه به‌نظر می‌رسد که احتمالاً رطوبت نقش مؤثرتری نسبت به سرب بر فعالیت آنزیم اوره‌آز دارد. این نتایج با نتایج ژیا و همکاران (۲۵) و یانگ و همکاران (۲۸) مبنی بر عدم تأثیر سرب بر فعالیت آنزیم اوره‌آز مشابه بود. درخصوص تأثیر رطوبت بر فعالیت آنزیم اوره‌آز پژوهشگران گزارش کردند که فعالیت آنزیم اوره‌آز با افزایش رطوبت تا ۵۰ درصد

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲. تغییرات فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در طی: الف) دو، ب) چهار، ج) شش، د) هشت، ه) ده هفته انکوباسیون خاک در دو رژیم متفاوت آبی و و) تغییرات آن در طی زمان است (مقادیر، میانگین سه تکرار ± SD است، حروف مشابه برای هر آنزیم (اسیدی و قلیایی مجزا) بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها با آزمون توکی در سطح ۵ درصد است. حروف مشابه در هر نمودار بیانگر عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها با آزمون توکی در سطح ۵ درصد است).

ظرفیت نگهداری آب افزایش می‌یابد؛ اما بالاتر از آن کاهش اندکی وجود دارد. اعتقاد بر این است که تغییرات در فعالیت آنزیم اوره‌آز متناسب با تغییرات در مقدار Fe و Al آمورف در شرایط غرقاب است (۲۴). در مقابل دلاوون و پاتریک (۲) مشاهده کردند، سرعت هیدرولیز اوره در خاکی با یک‌سوم بار رطوبت و خاکی که تحت شرایط غرقاب نگهداری می‌شوند، یکسان است. نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت آنزیم اوره‌آز در شرایط غرقابی بیشتر از ظرفیت

www.SID.ir

Archive of SID

مزرعه است. همچنین روند فعالیت آنـزیم اوره‌آز در شـرایط غرقابی در طی زمان متغیر بود. شرایط غرقاب می‌تواند سبب ایجاد یـک تـنش ناگهـانی در فعالیـت میکروارگانیسـم‌هـای هـوازی تولیـد کننـده آنـزیم اوره‌آز شـود. بـا وجـود ایـن میکروارگانیسم‌ها امکان استفاده از گیرنده‌های ثانویه الکترون نظیر ترکیبات آهن، منگنز، سولفات و غیره را دارند. شـرایط ماندابی ممکن است باعث بازدارندگی فعالیت‌های آنزیمی از طریق تغییرات در اجتماع میکروبی، کاهش اکسـیژن، کـاهش سنتز آنزیم، افزایش غلظت بازدارنده‌هایی مانند Fe^{2+} و Mn^{4+} (حلالیتشان در شرایط احیا افزایش می‌یابد) شـود (۵ و ۱۴). با انتشار کم اکسیژن درون خاک ماندابی متابولیسم غیرهوازی تحریک می‌شود (۱۸) که می‌تواند بیانگر تغییر نـوع فعالیـت آنزیم اوره‌آز باشد و این احتمال وجـود دارد کـه در شـرایط غرقـابی فعالیـت آنـزیم‌هـای اوره‌آز ناشـی از متابولیسـم غیرهوازی سبب افزایش فعالیت ایـن آنـزیم در ایـن تحقیـق باشد. از طرفی از آنجایی که pH خاک مـورد مطالعـه بـازی است و سرب در خاک‌های بـازی کمتـر بـه‌صـورت محلـول است و مقداری از سرب در خاک‌های آلوده ممکن است بـه خاطر واکنش با مواد معدنی و مواد آلی خاک یا آنیـون‌هـای معدنی غیرقابل دسترس شوند (۱۰)؛ به‌همـین دلیـل احتمـالاً آثار بازدارندگی آن بر فعالیـت آنـزیم اوره‌آز مشـاهده نشـد. همچنین در سیستم غرقابی امکـان ایجـاد pH مناسـب بـرای فعالیت این آنزیم فراهم شده اسـت کـه ممکـن اسـت دلیـل دیگری بر افزایش فعالیت این آنـزیم در شـرایط غرقـابی در بخشی از زمان باشد (۵ و ۲۶). به‌عـلاوه زانتـوا و همکـاران (۲۹) با مطالعه ۲۱ نمونه از خاک‌های ایالات آیوا دریافتند که هواخشک کردن نمونه‌های خاک و همچنـین نگهـداری آنهـا پس از هوا خشک‌کردن، هیچ تأثیری بر فعالیت آنزیم اوره‌آز ندارد. این پژوهشگران همچنین نشان دادند که فعالیت آنزیم اوره‌آز بـا درصـد شـن، رس و سـطح ویـژه ارتبـاط دارد و مشخص شد که فعالیت این آنزیم با کربن آلی، نیتروژن کـل و ظرفیت تبادل کاتیونی همبستگی معنی‌داری دارد (۲۹).

آنزیم فسفاتاز یک آنزیم برون‌سلولی است، لـذا فعالیـت آن ارتباط مستقیم با فعالیت میکروارگانیسم‌هـای تولیـد کننـده ایـن آنزیم در خاک دارد. رطوبـت و اکسـیژن کـافی، وجـود عناصـر غذایی مورد نیاز و حضور مواد آلـی در خـاک شـرایط را بـرای میکروارگانیسم‌های خـاک بـرای تولیـد آنـزیم فسـفاتاز فـراهم می‌کنند. ازآنجایی‌که pH خاک مورد مطالعـه بـازی اسـت و pH بهینه برای فعالیت آنـزیم فسـفاتاز اسـیدی ۶/۵ اسـت (۳، ۱۲ و ۲۳)؛ بنابراین فعالیت پایین فسفاتاز اسیدی در مقایسه با فسفاتاز قلیایی به‌احتمال زیاد مربوط به شرایط بهینه عمل آنزیم است. بر اساس گزارش‌ها در خاک‌های آلوده به فلزات سـنگین، فعالیـت آنزیم فسفاتاز اسیدی و اوره‌آز کمتـر از آریـل سـولفاتاز تحـت تأثیر قرار می‌گیرند (۸) که با نتایج ایـن پـژوهش در خصـوص عدم تأثیر سرب بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و اوره‌آز منطبق است. از طرفی بیشترین درصد بازدارنـدگی در بیشـترین مقـدار سرب (۸۰۰۰ میلی‌گـرم در کیلـوگرم خـاک) و در انتهـای دوره خواباندن و کمترین درصد بازدارندگی در کمترین مقدار سـرب (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بـوده اسـت (۲۱). در مقابـل برخی از مطالعات نشان می‌دهـد کـه سـرب نسـبت بـه فلـزات سنگین دیگر مانند کـادمیوم و روی بازدارنـدگی معنـی‌داری بـر فعالیت آنـزیم‌هـای اوره‌آز، فسـفاتاز قلیـایی نـدارد (۳، ۵، ۱۲ و ۳۰). یافته‌های این تحقیـق نشـان مـی‌دهـد در شـرایط ظرفیـت مزرعه در طی زمان با افزایش غلظت سـرب در خـاک فعالیـت فسفاتاز قلیایی کاهش می‌یابد. همچنین این تحقیق مشخص کرد که شرایط غرقابی سبب کاهش چشمگیر فعالیت آنزیم فسـفاتاز قلیایی و اسیدی شد. در این خصوص راستین و همکاران (۱۵)، کرامـر و گـرین (۷) و ویـک و همکـاران (۲۴) نشـان داده‌انـد، تغییـرات فصـلی در رطوبـت خـاک فعالیـت آنـزیم فسـفاتاز را محدود می‌کند. هاریسون (۴) و اسپیر و همکاران (۱۸) گـزارش کرده‌اند که فعالیت فسفاتاز همبسـتگی معنـی‌داری بـا تغییـرات رطوبتی خاک مزرعه دارد. یافته‌های اخیر مشخص کـرده اسـت که کاهش هیدرولیز فسـفر آلـی خـاک تحـت شـرایط غرقـاب، ممکن است به‌خاطر تأثیر بازدارندگی یون‌هـای فلـزی شـده در

www.SID.ir

شرایط غرقاب بر فعالیت این آنزیم است (۵ و ۸). لذا کاهش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در این تحقیق می‌تواند ناشی از بازدارندگی یون‌های فلزی احیا شده و همچنین کمبود اکسیژن باشد.

با وجود این در شرایط غرقاب، تأثیر رطوبت و سرب (برهم‌کنش آنها) در طی زمان سبب افزایش فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی شد که این روند افزایشی در طی زمان در شرایط غرقابی درخصوص آنزیم فسفاتاز قلیایی بیشتر مشهود بود. از آنجایی که فعالیت آنزیم فسفاتاز رابطه مثبت با فراهمی فسفر آلی و رابطه منفی با فسفر معدنی در دسترس دارد (۵). بنابراین تأثیر برهم‌کنش رطوبت و سرب بر تغییرات فعالیت آنزیم فسفاتاز احتمالاً مربوط به فراهمی فسفر معدنی و آلی است که نیازمند بررسی بیشتری است. مطالعات مشخص کرده است که اضافه شدن همزمان فلزات سنگین و کمپوست، با کاهش اثر بازدارندگی فلزات سنگین همراه شده است (۱۶، ۲۶، ۲۷ و ۳۰). از طرفی مورنو و همکاران (۱۱) پیشنهاد دادند، یکی از دلایل کاهش فعالیت آنزیمی خاک با زمان خواباندن احتمالاً به‌خاطر کاهش زمان به‌آسانی در دسترس بودن مواد اولیه برای میکروارگانیسم‌های خاک است. لذا به‌نظر می‌رسد تغییرات فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در پاسخ به تنش سرب، رطوبت و زمان احتمالاً وابسته به میزان فراهمی مواد اولیه، میزان فسفر آلی و pH است.

منابع مورد استفاده

1. Cao, H. -F., A. Chang and A. Page. 1984. Heavy metal contents of sludge-treated soils as determined by three extraction procedures 1. *Journal of Environmental Quality 13*: 632-634.
2. Delaune, R. and W. H. Patrick. 1970. Urea conversion to ammonia in waterlogged soils 1. *Soil Science Society of America Journal* 34: 603-607.
3. Eivazi, F. and M. Tabatabai. 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 9: 167-172.
4. Harrison, A. 1983. Relationship between intensity of phosphatase activity and physico-chemical properties in woodland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 15: 93-99.
5. Karaca, A., S. C. Cetin, O. C. Turgay and R. Kizilkaya. 2010. Effects of heavy metals on soil enzyme activities. PP. 237-262, Soil Heavy Metals. Springer.
6. Klute, A. and R. C. Dinauer. 1986. Physical and mineralogical methods. *Planning* 8: 79.
7. Krämer, S. and D. M. Green. 2000. Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in a semiarid woodland. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 179-188.
8. Maddela, N. R. and K. Venkateswarlu. 2018. Selected soils, insecticides and soil enzymes. PP. 17-31, Insecticides-Soil Microbiota Interactions. Springer.
9. Marzadori, C., C. Ciavatta, D. Montecchio and C. Gessa. 1996. Effects of lead pollution on different soil enzyme activities. *Biology and Fertility of Soils* 22: 53-58.
10. Modolo, L. V., C. J. da-Silva, D. S. Brandão and I. S. Chaves. 2018. A minireview on what we have learned about urease inhibitors of agricultural interest since mid-2000s. *Journal of Advanced Research* 13: 29-37.
11. Moreno, J., T. Hernández and C. Garcia. 1999. Effects of a cadmium-contaminated sewage sludge compost on dynamics of organic matter and microbial activity in an arid soil. *Biology and Fertility of Soils* 28: 230-237.
12. Nannipieri, P., L. Giagnoni, L. Landi and G. Renella. 2011. Role of phosphatase enzymes in soil. PP. 215-243. *In*: Bünemann, E., A. Oberson and E. Frossard, (Eds.), Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
13. Page, A., R. Miller and D. Keeney. 1982. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy. Soil Science Society of America.
14. Pierzynski, G., J. Sims and G. Vance. 2000. Soils and Environmental Quality, CRC Press LLC. *Boca Raton, FL*.
15. Rastin, N., K. Rosenplänter and A. Hüttermann. 1988. Seasonal variation of enzyme activity and their dependence on certain soil factors in a beech forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 20: 637-642.
16. Salam, A. K., Y. Desvia, E. Sutanto, T. Syam, S. G. Nugroho and M. Kimura. 1999. Activities of soil enzymes in different land-use systems in middle terrace areas of Lampung Province, South Sumatra, Indonesia. *Soil Science and Plant Nutrition* 45: 89-99.
17. Sparks, D. L., P. Helmke and A. Page. 1996. Methods of soil analysis: Chemical Methods. SSSA.
18. Speir, T. W., H. Kettles, A. Parshotam, P. Searle and L. Vlaar. 1995. A simple kinetic approach to derive the

www.SID.ir

Archive of SID

ecological dose value, ED50, for the assessment of Cr (VI) toxicity to soil biological properties. *Soil Biology and Biochemistry* 27: 801-810.
19. Tabatabai, M. 1982. Soil enzymes1. Methods of Soil Analysis. Part 2. PP. 903-947, Chemical and Microbiological Properties, Madison.
20. Tabatabai, M. and J. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1: 301-307.
21. Tejada, M., M. Hernandez and C. Garcia. 2007. Application of two organic wastes in a soil polluted by lead. *Journal of Environmental Quality* 36: 216-225.
22. Walkley, A. 1947. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils-effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Science* 63: 251-264.
23. Wang, L., W. Zhang, J. Wang, L. Zhu, J. Wang, S. Yan and Z. Ahmad. 2019. Toxicity of enrofloxacin and Cadmium alone and in combination to enzymatic activities and microbial community structure in soil. *Environmental Geochemistry and Health* 1-14.
24. Wick, B., R. F. Kühne, K. Vielhauer and P. L. Vlek. 2002. Temporal variability of selected soil microbiological and biochemical indicators under different soil quality conditions in south-western Nigeria. *Biology and Fertility of Soils* 35: 155-167.
25. Xia, L., L. Shuqing and W. Shengai. 2002. The relationship between heavy metal forms and soil enzymatic activities in the main soils of Hebei Province. *Hebei Nongye Daxue Xuebao (China)* 25: 33-37.
26. Xian, Y., M. Wang and W. Chen. 2015. Quantitative assessment on soil enzyme activities of heavy metal contaminated soils with various soil properties. *Chemosphere* 139: 604-608.
27. Yang, X., J. Liu, K. McGrouther, H. Huang, K. Lu, X. Guo, L. He, X. Lin, L. Che and Z. Ye. 2016. Effect of biochar on the extractability of heavy metals (Cd, Cu, Pb, and Zn) and enzyme activity in soil. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 974-984.
28. Yang, Z. -X., S. -Q. Liu, D. -W. Zheng and S.-D. Feng. 2006. Effects of Cadium, Zinc and Lead on soil enzyme activities. *Journal of Environmental Sciences* 18: 1135-1141.
29. Zantua, M., L. Dumenil and J. Bremner. 1977. Relationships between soil urease activity and other soil properties 1. *Soil Science Society of America Journal* 41: 350-352.
30. Zhang, Y., L. Chen, X. Chen, M. Tan, Z. Duan, Z. Wu, X. Li and X. Fan. 2015. Response of soil enzyme activity to long-term restoration of desertified land. *Catena* 133: 64-70.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Water and Soil Science
Vol. 24, No. 1. Spring 2020, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

The Relationship between Soil Moisture and Lead on the Activity of Urease and Phosphatase Enzymes

A. Forghani[1*], A. H. Forghani[2], M. Taghizadeh[3] and B. Rabiei[3]

(Received: January 7-2019; Accepted: July 22-2019)

Abstract

Soils pollution with heavy metals is due to the presence of various metals such as copper, nickel, cadmium, zinc, chromium and lead. Heavy metals have a negative effect on the biological parameters of soil, including size, activity and diversity of soil microbial population, as well as the enzymes involved in the deformation of such elements as P, N, C, and S. Thus, the activity of soil enzymes as a bioavailable agent is reflected as a cheap and fast method for the natural and anthropogenic distribution of heavy metals contamination. The purpose of this study was to investigate the effect of lead, humidity and their interaction on urease and phosphatase enzyme activity during a 10 week incubation period. Different levels of acetate lead (50,100, 150 and 200 mg/kg soil) were added to the plots containing two different moisture regimes (field capacity and flooding). The activity of urease and phosphatase (alkaline and acidity) was measured after 2,4,6,8 and 10 weeks of incubation. The results indicated different levels of lead had no significant effect on the activity of urease and acidity phosphatase. In contrast, high levels of lead significantly reduced the activity of alkaline phosphatase. Moreover, moisture served a different role in the activity of these enzymes, and it was related to the lead concentration and incubation time. Additionally, the function and interaction of lead, moisture and time were very influential on urease and phosphatase activity. Therefore, the above three characteristics are very important to study soil contamination for the polluted soils.

Keywords: Field capacity, Flood, Acid phosphatase, Alkaline phosphatase, Physical and chemical of soil

1- Department of Soil Science, College of Agriculture Science, University of Guilan, Guilan, Iran.
2- Department of Biology, College of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran.
3- Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture Science, University of Guilan, Guilan, Iran.
*: Corresponding author, Email: forghani@guilan.ac.ir

www.SID.ir